昆 虫 学 报 *Acta Entomologica Sinica*, March 2007, 50(3): 215 – 221 ISSN 0454-6296

家蚕 MYST 组蛋白乙酰转移酶基因 *Bm-mof* 的克隆表达和转录活性检测

孔卫青, 杨金宏, 朱 勇*

(西南大学蚕学与生物技术学院, 农业部蚕桑学重点实验室, 重庆 400716)

摘要: MYST 组蛋白乙酰转移酶(histone acetyltransferase, HAT)广泛存在于从酵母到人的真核生物中, 在真核生物的转录调控中起着重要的作用。利用 NCBI 已登录的其他物种该基因的氨基酸序列与家蚕的基因组框架图和表达序列标签(expressed sequence tags, EST)数据库进行电子克隆, 获得了家蚕中的同源基因。该基因长 1 575 bp(GenBank 登录号为 DQ442997), 开放阅读框(ORF)长 1 326 bp, 无内含子。基因编码 442 个氨基酸, 预测蛋白质的分子量为 51.4 kD。序列中有 HAT 核心结构域、锌指结构域和染色质域 3 个保守的结构域, 与其他物种同源基因具有较高的序列相似性。RT-PCR 结果表明该基因在本实验所检测的家蚕各时期和组织中均有表达。将该基因用亚克隆的方法导入到 pET50b 载体中并成功地进行了原核表达, 表达出了带有 6 个组氨酸和 1 个 Nus·Tag 标签的重组蛋白。

关键词: 家蚕; MYST 组蛋白乙酰转移酶; 克隆; 序列分析; 表达谱

中图分类号: Q786 **文献标识码**: A **文章编号**: 0454-6296(2007)03-0215-07

Cloning, expression and transcriptional activity of *Bm-mof*, an MYST histone acetyltransferase gene in the silkworm, *Bombyx mori* L.

KONG Wei-Qing, YANG Jin-Hong, ZHU Yong* (The Key Sericultural Laboratory of Agricultural Ministry, College of Sericulture and Biotechnology, Southwest University, Chongqing 400716, China)

Abstract: MYST acetyltransferase widely exists in the eukaryon from yeast to human and it is now known to play a major role in the regulation of eukaryotic transcription. Based on the reported amino acid sequences of other organisms and the scaffold and EST sequences of the silkworm *Bombyx mori* L., the MYST acetyltransferase gene of the silkworm was obtained with silico cloning. The gene is 1 575 bp in length (GenBank accession number: DQ442997), containing an ORF of 1 326 bp and no intron. The predicted protein consists of 442 amino acids with the molecular weight of 51.4 kD. It contains three conservative domains, *i.e.*, MYST core domain, zinc finger and chromodomain, and has high similarity with homologous genes in other species. The RT-PCR experiment indicated that the gene was expressed in all tested tissues and stages of the silkworm. Prokaryotic expression of the gene recombinant with six-His tag and a Nus·Tag was successfully carried out through sub-cloning into pET50b vector.

Key words: *Bombyx mori*; MYST histone acetyltransferase; clone; sequence analysis; expression

真核细胞组蛋白的乙酰化现象已发现多年, 组蛋白乙酰转移酶(histone acetyltransferase, HAT)通过对组蛋白特异的赖氨酸残基进行乙酰化并改变染色质蛋白和转录相关因子的构象来调节真核生物的许多基因转录。MYST(*Moz*, *Ybf2/Sas3*, *Sas2* 和 *Tip60*)家族基因(以下简称 MYST 基因)是根据序列相似性和结构域的保守性以及最先发现基因的首字母来命名的一类 HAT 基因。最近, 根据蛋白序列的高度相似性及保守的乙酰转移酶区域, 又得到了其他几个 MYST 基因: 酵母的 *Esa1*, 果蝇的 *mof*、*Chameau* 和

基金项目: 重庆市教委基金项目(040208)

作者简介: 孔卫青, 女, 1980 年生, 山东人, 博士研究生, 研究方向为家蚕分子生物学, E-mail: weiqing_kongwq@126.com

* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail: zhu@swau.cq.cn

收稿日期 Received: 2006-09-12; 接受日期 Accepted: 2006-12-06

Enok，人的 *HBO1*、*MORF*、*MOZ* 和 *hMOF*。这些基因大多以复合体的形式并用 MYST 基因的 HAT 活性结构域对组蛋白 H4 的特异的赖氨酸残基(H4K－)或组蛋白 H3 进行乙酰化来调节基因的转录。

酵母的 *Sas*2(Shia *et al*.，2005)和 *Sas*3(Takechi and Nakayama，1999)基因分别位于 SAS 和 NuA3 复合体，*Sas*2 在端粒沉默中起作用，*Sas*3 参与配对位点的沉默，这些都是通过对组蛋白 H4 的 16 位赖氨酸残基(H4K16)和组蛋白 H3 进行特异的乙酰化来完成的。酵母 NuA4 复合体的催化亚基 *Esa*1 在核小体组蛋白在转录过程中的特异调节、细胞循环甚至细胞修复中起作用。*Esa*1 在体内的缺失可导致 H4K5 特异的组蛋白乙酰化缺失和生长发育中 G2/M 期的堆积和细胞循环的复制前阻滞的特异的缺陷，倾向于有丝分裂和细胞分裂的方向发展(Clarke *et al*.，1999；Doyon *et al*.，2004)。果蝇的 *mof* 也是通过与其他 4 个基因(*mle*、*msl-1*、*msl-2* 和 *msl-3*)形成剂量补偿复合体(dosage complement complex，DCC)并连同两个非编码的 RNA(*Rox1* 和 *Rox2*)调节雄性果蝇的一个 X 染色体上连锁基因的转录，使之表达量加倍而与雌性果蝇的两个 X 染色体连锁基因表达量相同。该过程也是通过 *MOF* 对组蛋白 H4K16 的特异的乙酰化来实现的(Smith *et al*.，2000)，并且 *MOF* 的突变使该乙酰化的失败最终会导致雄性果蝇的致死。*hMOF* 在人体中形成与果蝇 DCC 相类似的复合体(Smith *et al*.，2005)，且该基因还具有与酵母的 *Esa1* 基因在细胞中相似的作用(Taipale *et al*.，2005)。*MOZ* 是与人的白血病相关的基因，该基因与人的另一 HAT 基因 *CBP* 融合产生一个包括 *MOZ* 的 N 末端的 3/4(含 MYST 和锌指域)和 *CBP* 的 C 末端的 90%(含 HAT 域和相互作用启动区)的嵌合蛋白 MOZ-CBP，该蛋白会使染色质域产生异常的乙酰化而最终导致白血病(Pelletier *et al*.，2003)。*MORF* 含有 2 个 PHD 结构的 N 末端抑制区，它的缺失可导致体外 HAT 活性和体内作为报告基因的 *Gal4-MORF* 的转录明显增强(Pelletier *et al*.，2003)。

家蚕 *Bombyx mori* 作为鳞翅目昆虫的模式生物，又是一个经济昆虫，目前对其转录调控机制研究还比较少，而且家蚕中至今未见有关乙酰转移酶基因方面的报道。我们根据已公布的 MYST 基因序列及已知的家蚕 EST 序列和基因组序列对家蚕的 MYST 乙酰转移酶基因进行了生物信息学分析、克隆、测序和原核表达，并研究了其在家蚕不同时期和组织器官的表达谱，为进一步研究家蚕的转录调控及其在家蚕中的功能提供了参考和依据。

1 材料和方法

1.1 家蚕 MYST 乙酰转移酶基因的信息学分析

家蚕基因组和 EST 序列均来自 SilkBase(http://silkworm.genomics.org.cn/index.jsp)数据库。利用 NCBI(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)下载酵母 *ESA1*(Q08649)、*Sas2*(P40963)和 *Sas3*(P34218)，果蝇 *MOF*(CG3025-PA)以及人 *hMOF*(Q9H7Z6)、*Tip60*(Q92993)、*HBO1*(O95251)、*MORF*(AAF00095.1)和 *MOZ*(AAL56647.1)等 MYST 基因序列，对家蚕基因组和 EST 数据库进行 tBLASTn 检索，并对得到的序列用 DNAStar 软件进行拼接延伸。蛋白质 motif 预测在 EXPASY(http://au.expasy.org)进行，该序列与其同源序列的比对用 Clustal W。

1.2 实验材料

家蚕品种为 C100，正常条件饲育，取 5 龄幼虫组织和器官，液氮速冻后保存于 －80℃备用。

1.3 RNA 提取和引物设计

Tripure(Roche)试剂提取家蚕总 RNA，M-MLV 反转录酶(Promega)反转录得到第 1 链 cDNA 并以此为模板进行 PCR 扩增，所有的步骤均按照试剂的使用说明书进行。引物设计应用 Primer Premier 5.0 进行，引物序列为 F1：GCGTGATACCATTGTTGTTGTCG，R1：CTTTTTGGCTTTGGCAGAGTTCC；F2：CTAGCTAGCATGGCAAAAGGTGATAAAGAA，R2：CCCAAGCTTACTACTTTTTGGCTTTGGCA。

1.4 家蚕 *Bm-mof* 基因 cDNA 的克隆与测序

以家蚕中肠 cDNA 为模板并用 F1/R1 引物进行 PCR 扩增，反应条件为 94℃，5 min 预变性后，94℃，30 s 变性，52℃，1 min 退火，72℃，1 min 30 s 延伸，30 个循环，72℃终延伸 7 min，4℃保存。PCR 产物用 1%琼脂糖凝胶电泳并回收纯化，进行 TA 克隆(TaKaRa，pMD18-T 载体)，连接产物转化至大肠杆菌 DH5α，阳性克隆通过蓝白斑筛选得到并通过酶切测序鉴定，测序在 Invitrogen 公司进行。

1.5 家蚕 *Bm-mof* 基因的转录活性研究

以家蚕未受精卵，滞育卵，2 龄起蚕，三眠期蚕，5 龄期精巢、卵巢、头、中肠、丝腺、马氏管、血液、表皮和脂肪以及预化蛹、蛹生殖腺和蛹血等的 cDNA 为模板，以 F1/R1 引物进行 RT-PCR 扩增，扩增产物

用 1.2% 琼脂糖凝胶电泳检测基因的转录活性。同时用未反转录的 RNA 检测模板纯度。

1.6　亚克隆进行 *Bm-mof* 的原核表达研究

以上述克隆为模板，以 F2/R2 引物进行 PCR 扩增合并将 PCR 产物进行 TA 克隆。对经测序鉴定插入序列为正向的克隆利用克隆载体上所含有的 *Eco*R Ⅰ 和 *Hin*d Ⅲ 酶切位点进行双酶切，同时将原核表达载体 pET-50b 进行双酶切。对两酶切产物进行回收并连接，阳性克隆（pET50b-Bm-MOF）经再次测序鉴定后，转化大肠杆菌 BL21（DE3）并进行 IPTG 诱导表达、SDS-PAGE 和考马斯亮蓝 R250 染色，得到该基因表达的蛋白质。

2　结果与分析

2.1　家蚕 MYST 组蛋白乙酰转移酶基因序列的分析与克隆测序

为了得到准确完整的家蚕 MYST 组蛋白乙酰转移酶基因，利用 tBLASTn 程序对家蚕 EST 库及家蚕基因组进行了比对，并对所得序列进行拼接，得到 2 条具有 MYST 基因的核心结构域的基因，其中一条全长 1 575 bp，命名为 *Bm-mof*（GenBank 登录号为 DQ442997），序列不含内含子。另外一条长约 2 000 bp，含 5 个外显子，4 个内含子，命名为 *Bm-mof2*。初步分析发现后者与其他基因的相似性程度稍低，故仅对 *Bm-mof* 基因进行了克隆和分析。

以家蚕 5 龄期中肠 RNA 反转录的 cDNA 为模板，并用 F1 和 R1 引物进行 PCR 扩增。扩增产物经琼脂糖凝胶电泳分析在 1 300 bp 处出现一条单一带，与预计大小相符（图 1），用 pMD18-T 载体克隆后测序，测序结果与预测基本一致。

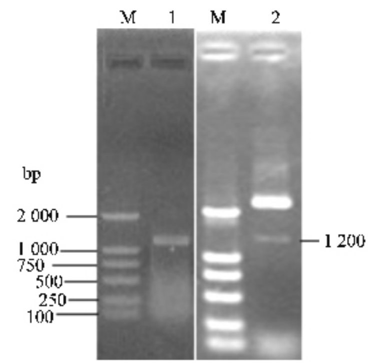


图 1　*Bm-mof* 的 RT-PCR 扩增和质粒的酶切鉴定

Fig. 1　RT-PCR of *Bm-mof* gene and the digested identification of TA clone

M：DNA 标准 DNA marker DL2000；1：RT-PCR 产物 RT-PCR product；2：重组质粒的酶切 Recombinant plasmid DNA digested with *Eco*R Ⅰ and *Hin*d Ⅲ.

2.2　家蚕 *Bm-mof* 基因全长以及根据该基因预测的蛋白质结构和序列分析

家蚕 *Bm-mof* 全长 1 575 bp（图 2），开放阅读框（ORF：163 ~ 1 489）长 1 326 bp，编码 442 个氨基酸，编码蛋白的分子量为 51.44 kD。与果蝇的 *MOF*，人的 *hMOF*、*TIP60*、*HBO1*、*MORF* 和 *MOZ* 及酵母的 *ESA1*、*SAS2* 和 *SAS3* 的 *MYST* 核心结构域的相似性分别为 69%、82%、67%、75%、66%、66%、57%、53% 和 63%。EXPASY 预测结构域及分析结果（图 3）表明，该基因除具有 MYST 基因乙酰转移酶基因的核心结构域外，还含有其他大部分 MYST 基因都有的 2 个结构域：染色质域和锌指结构域。从结构域的分布也可看出，果蝇的 *MOF*、人的 *hMOF* 和 *TIP60* 以及家蚕 *Bm-MOF* 相似性较高的基因都包含有相似的 3 个结构域，另外酵母的 *ESA1* 也含有染色质域。C_2HC 锌指结构域分布较广泛，除酵母的 *ESA1* 没有以及人的 *HBO1* 有 2 个外，其他基因中都有一个该结构域。应用人 *hMOF*、*TIP60*、*HBO1*、*MORF*、*MOZ* 和果蝇的 *MOF* 以及酵母的 *ESA1*、*SAS2*、*SAS3* 及本实验得到的序列进行多序列比对并构建系统发生树，结果显示：*Bm-MOF* 与人的 *hMOF* 和果蝇 *MOF* 3 个具有相似性结构的基因优先聚在一起，而 5 个含有染色质域的基因的距离也较近；同时，不含有染色质域的其他几个基因的距离较近（图 4：A，B）。

2.3　半定量 PCR 研究表达特异性

提取家蚕未受精卵、滞育卵、2 龄起蚕、三眠期蚕及 5 龄期各组织器官、预化蛹、蛹期生殖腺和血液的 RNA，进行 RT-PCR 扩增，结果表明：该基因在本实验检测的家蚕的所有时期和组织中都有表达，而以 RNA 为模板的 PCR 未见扩增出产物条带（图 5）。

2.4　原核表达结果

亚克隆至 pET50b 原核表达载体的克隆 pET50b-Bm-MOF 应用 TB 培养基在 30℃进行培养，并用 0.4 mmol/L IPTG 诱导表达该基因的蛋白质，SDS-PAGE 和考马斯亮蓝 R250 染色结果显示：pET50b 空载体因其本身含有一个 64.3 kD 的 Nus·Tag 标签，加上多克隆位点及组氨酸标签蛋白引入的分子质量，得到了一个约 68 kD 大小的蛋白质；相似地，*Bm-mof* 本身分子质量为 51.4 kD，与载体上引入的部分蛋白的分子质量得到一约 120 kD 大小的蛋白（图 6）。

```
1    CGATAAAATCGCTAGAATTCTATCGGACTCAACTCTTAACCGTGCATTTCTCGTATGCTGCTTGGTTTTTCTATAATC 78
79   TATGCTAAATGCTAATATGGCCACTTCGTCGATGAAGCGCATTGCGCGGTATTGCGTGATACCATTGTTGTTGTCGGC 156
                                                         F1
157  ATTATTATGGCAAAAGGTGATAAAGAATTAGAGAAGCCAATAGTGAATAATGAGTTGCCTAATCCTGAGTGTAGAAGT 234
            F2
1          M  A  K  G  D  K  E  L  E  K  P  I  V  N  N  E  L  P  N  P  E  C  R  S  24
235  ACTGATAATGAAGACTCCGAGTCGGTCCCAGAACAGCCTTTGGACATAGGAGAACATTATTTAGTGCGGCGATCGGAT 312
25   T  D  N  E  D  S  E  S  V  P  E  Q  P  L  D  I  G  E  H  Y  L  V  R  R  S  D  50
313  GAGTCATGGCACCCGGCTGAGATTATACAGTCGCGATACAGTACAGCGGAATCTTGTTACGAATACTATGTCCATTAT 390
51   E  S  W  H  P  A  E  I  I  Q  S  R  Y  S  T  A  E  S  C  Y  E  Y  Y  V  H  Y  76
391  GTCGGATATGATAGAAGACTCGACGAATGGGTGTCCCGCCACCGGGTTATGTCAGATAGGTTCGACGTACGCGAGCAG 468
77   V  G  Y  D  R  R  L  D  E  W  V  S  R  H  R  V  M  S  D  R  F  D  V  R  E  Q  102
469  TCGAACAATAACATAAACTGCGACCACCTGCTCACGGACAAATCCGGCCGGAAAATAACAAGGAATCAAAAACGTAAA 546
103  S  N  N  N  I  N  C  D  H  L  L  T  D  K  S  G  R  K  I  T  R  N  Q  K  R  K  128
547  CATGACGAAATAAACCATGTGCAGAAAACTTACGCCGAAATGGATCCAACGACCGCCGCGCTTGAAAAGGAACATGTA 624
129  H  D  E  I  N  H  V  Q  K  T  Y  A  E  M  D  P  T  T  A  A  L  E  K  E  H  V  154
625  GCCATTACTAAAGTTAAATACATAGACAGGATACAAATTGGAAAATATGAAATCGATACTTGGTATTTTAGTCCGTAT 702
155  A  I  T  K  V  K  Y  I  D  R  I  Q  I  G  K  Y  E  I  D  T  W  Y  F  S  P  Y  180
703  CCTGATGAATATGGTAAACAATCAAAATTGTGGTTATGTGAATACTGTTTGAAGTATATGAGAATGGAAAAAACATAC 780
161  P  D  E  Y  G  K  Q  S  K  L  W  L  C  E  Y  C  L  K  Y  M  R  M  E  K  T  Y  206
781  CGGTACCATCTCAGTGAATGCACAGCACGCCAACCCCAGGGTAACGAAATATACAGAAAAGGTACAATAGCTATTTTT 858
207  R  Y  H  L  S  E  C  T  A  R  Q  P  Q  G  D  E  I  Y  R  K  G  T  I  A  I  F  232
859  GAAGCAGATGGCAAAGAACATAAAATATATTGCCAGAATTTGTGTTTATTAGCCAAATTATTTTTAGATCACAAAACC 936
233  E  A  D  G  K  E  H  K  I  Y  C  Q  N  L  C  L  L  A  K  L  F  L  D  H  K  T  258
937  CTTTATTTTGATATAGAACAGTTTTTATTTTATATTTTGTGTGAAGTTGACAAGCAAGGAGCTCACCTTGTAGGATAT 1004
259  L  Y  F  D  I  E  Q  F  L  F  Y  I  L  C  E  V  D  K  Q  G  A  H  L  V  G  Y  284
1005 TTTTCAAAAGAAAAGGATTCACCTGAAGGCAATAATGTGGCATGTATATTGACTCTACCTCCATATCAGAGACAGGGG 1082
285  F  S  K  E  K  D  S  P  E  G  N  N  V  A  C  I  L  T  L  P  P  Y  Q  R  Q  G  310
1083 TATGGTAAACTCCTGATAGCTTTTAGTTATGAACTCTCAAGGCTCGAACAAGTTGTTGGAAGTCCAGAGAAGCCTTTA 1160
311  Y  G  K  L  L  I  A  F  S  Y  E  L  S  R  L  D  Q  V  V  G  S  P  E  K  P  L  336
1161 TCAGATTTAGGCAAGTTAAGTTACAGATCGTACTGGTCATATGTTTTATTAGAAGTGTTAAGTGCTAGTAGAGGTACA 1238
337  S  D  L  G  K  L  S  Y  R  S  Y  W  S  Y  V  L  L  E  V  L  S  A  S  R  G  T  362
1239 TTAAGTATCAAGGATTTAAGTCAGATGACAGGAATATCACAAACGGACATCATTTCAACTTTACAGTCAATGAACATG 1316
363  L  S  I  K  D  L  S  Q  M  T  G  I  S  Q  T  D  I  I  S  T  L  Q  S  M  N  M  388
1317 GTGAAGTACTGGAAAGGACAGCATGTTATTTGTGTTACACCTAAAATAGTTGCTGAACAATTAGCAAGCCCGCACTTT 1394
389  V  K  Y  W  K  G  Q  H  V  I  C  V  T  P  K  I  V  A  E  Q  L  A  S  P  H  F  414
1395 AAAAAACCACGGTTATCAATAGATCCTTCAGCACTGAGATGGACACCCCCTAGTAAACAGGGGAACTCTGCCAAAGCC 1472
                                                                       R1      R2
415  K  K  P  R  L  S  I  D  P  S  A  L  R  W  T  P  P  S  K  Q  G  N  S  A  K  A  440
1473 AAAAAGTAGTACAGGCTTACAGGCAGGGCTTAGGGAATGTTAAAACACAGTTAAAACCAATATCTCAAGTCCAGGCCT 1550
441  K  K  *                                                                      442
1551 GTTATAATAAAAAAC    1575
```

图 2 *Bm-mof* 基因的序列及推导的氨基酸序列

Fig. 2 The nucleotide sequence and the deduced amino acid sequence of *Bm-mof* gene

方框内序列表示 F1 和 R1 引物 The boxed nucleiotides indicate F1 and R1 primer；下划线序列表示 F2 和 R2 引物 The underlined sequence indicate F2 and R2 primer；阴影序列为 poly(A)加尾信号 Polyadenylation signal is shadowed；*：终止密码子 Stop codon.

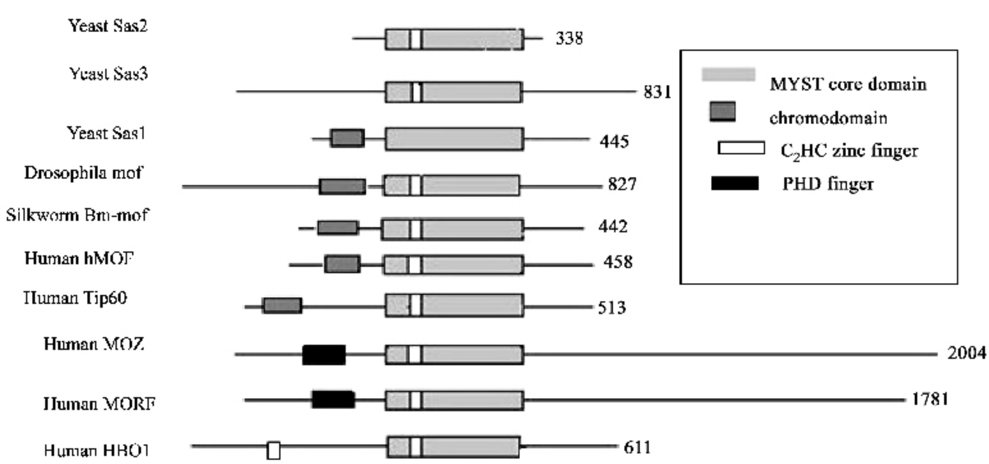


图 3 MYST 乙酰转移酶基因的结构域示意图(图中标出了 MYST 核心结构域以及其他蛋白质域的位置)

Fig. 3 Structure of MYST acetyltransferase, showing the location of MYST core domain plus the additional protein domains

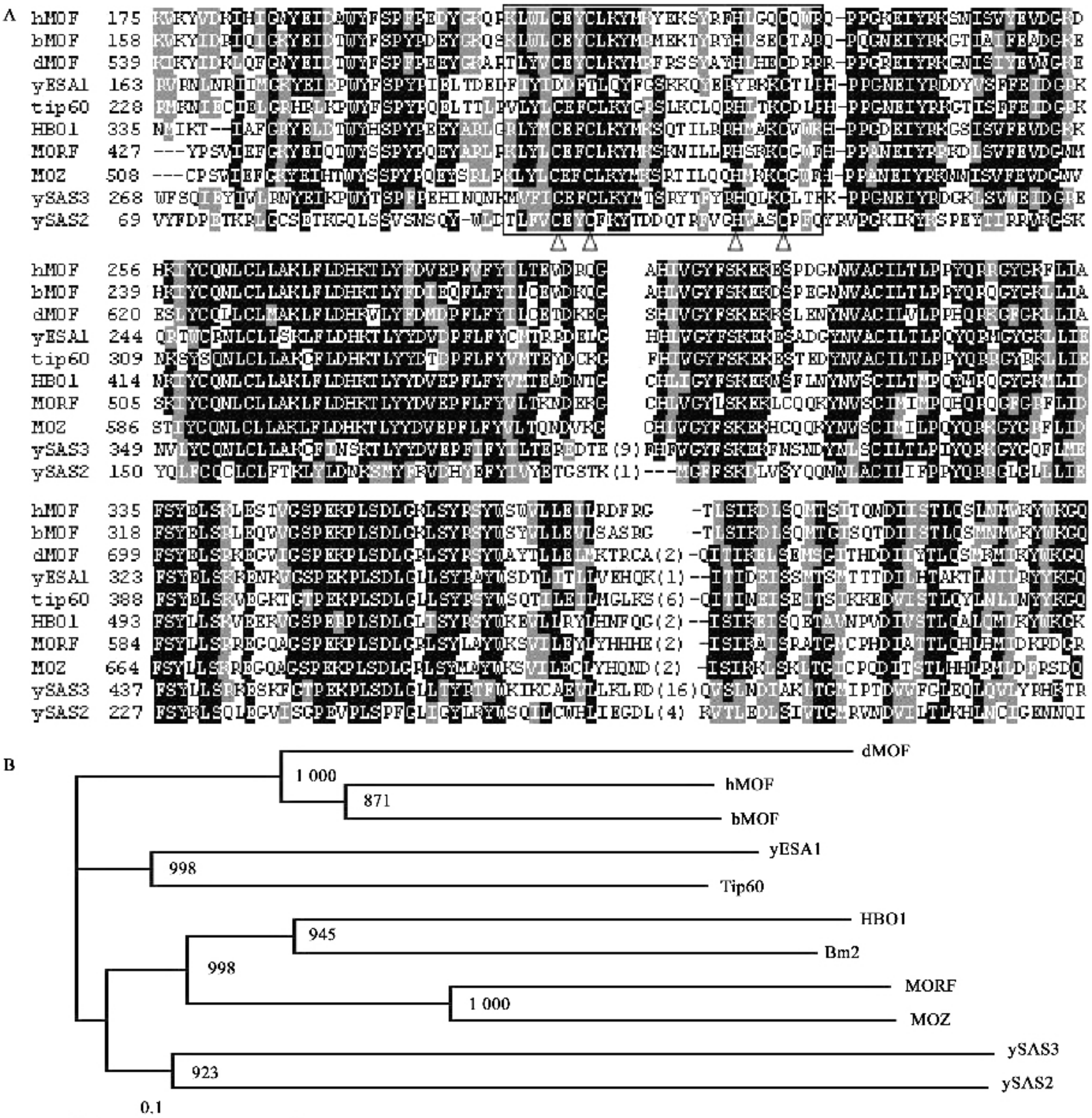


图 4　几个 MYST 乙酰转移酶基因的系统发生关系

Fig. 4　Phylogenetic relationship of several MYST acetyltransferase genes

A：几个 MYST 类 HAT 基因的核心结构域的多序列比对，方框和三角锌指结构域和其 C、C、H、C 骨架 Multiple alignment of the core domain of several MYST HAT genes. The boxed and triangle indicate C_2HC zinc finger and sketch of the domain, respectively. B：应用 Neighbour-joining 方法并通过 bootstrap 确定其可信度得到的系统进化树 The phylogenetic tree produced by the Neighbor-joining method and the bootstrapped values. dMOF：果蝇 *mof*（*Drosophila mof*）；bMOF：家蚕 *Bm-mof*（*Bm-mof* of *Bombyx mori*）；yESA1，ySAS2 和 ySAS3：酵母 *ESA1*，*SAS2* 和 *SAS3*（Yeast *ESA1*，*SAS2* and *SAS3*）；Bm2：家蚕 *Bm-mof2*（*Bm-mof2* of *Bombyx mori*）.

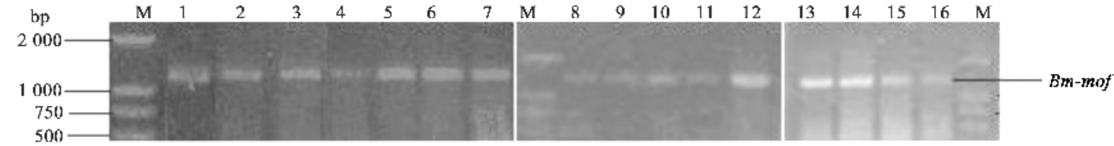


图5 家蚕不同发育时期各组织 *Bm-mof* 基因 RT-PCR 扩增产物鉴定

Fig. 5 Identification of the RT-PCR product of *Bm-mof* gene in tissues of *Bombyx mori* at the different developmental stages

M：DNA 标准 DNA marker DL2000；1：丝腺 Silk gland；2：头 Brain；3：精巢 Testis；4：卵巢 Ovary；5：血液 Blood；6：中肠 Midgut；7：马氏管 Malpighian tubule；8：脂肪体 Fat body；9：体壁 Body wall；10：未受精卵 Unfertilized egg；11：滞育卵 Diapaused egg；12：2 龄起蚕 1st day of 2nd instar larva；13：蛹血液 Pupa blood；14：蛹生殖腺 Pupa gonad；15：三眠期蚕 Silkworm in 3rd molting；16：预化蛹 Pre-pupa.

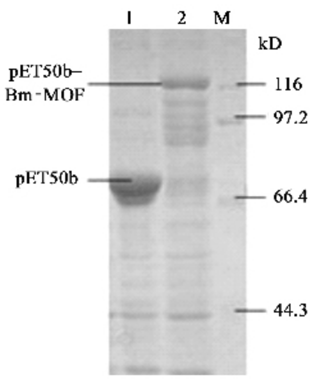


图6 原核表达蛋白质的 SDS-PAGE 和考马斯亮蓝 R250 染色

Fig. 6 SDS-PAGE and Coomassie dye of the protein expressed in *E. coli*

M：蛋白质分子量标准 Protein molecular weight marker；1：pET50b 转化大肠杆菌 BL21（DE3）经诱导表达的蛋白质 The protein of pET50b transformed to BL21（DE3）and induced by IPTG；2：pET50b-Bm-MOF 转化大肠杆菌 BL21（DE3）经 IPTG 诱导表达的蛋白质 The protein of pET50b-Bm-MOF transformed to BL21（DE3）and induced by IPTG.

3 讨论

真核生物体内的乙酰转移酶已有很多报道，其中，MYST 乙酰转移酶在生物的转录调控中的功能已在多个物种中被证实，特别是在调控其下游基因的表达剂量中起重要作用。

本实验首次得到家蚕的 MYST 乙酰转移酶基因，基因全长 1 575 bp，ORF 长 1 326 bp，编码 442 个氨基酸。该基因无内含子，这也与其他真核生物非常相似，且不同物种间的氨基酸序列相似性较高，也说明该基因非常保守，推测其功能也有较高的保守性。对家蚕 *Bm-mof* 基因的时空表达谱分析发现，*Bm-mof* 在本实验所检测的家蚕各时期和组织中都有表达，这表明它是一种广泛存在的乙酰转移酶，在家蚕发育过程中可能在调控家蚕基因转录和表达中起重要作用。

氨基酸序列相似性和结构域分析结果表明：家蚕 *Bm-mof* 基因与人和果蝇中的同源基因不仅序列相似性高，且基因结构和结构域的分布都很相似。在对果蝇的 *mof* 基因结构域的功能研究中发现，其 C_2HC 锌指结构域对乙酰转移酶活性非常重要，且为 *MOF* 在 X 染色体上的结合和定位所需（Akhtar and Becker，2004；Morales *et al*.，2004）。染色质域可介导蛋白质间相互作用，还在基因与 RNA 的结合中起重要作用。在果蝇、酵母和人（Eisen *et al*.，2001；Doyon *et al*.，2004）的乙酰转移酶复合体中还分别存在另外一个包含染色质域的基因 *msl-3*、*Eaf1* 和 *hMSL3*，它们分别与 *mof*、*Esa1* 和 *hMOF* 之间具有相互作用，且共同为复合体在 X 染色体上的结合及染色质构象的改变并调节转录所需，由此也可说明染色质域可能具有维持基因组异染色质状态且作为核苷酸结合位点的起源的作用（Jones *et al*.，2000；Carrozza *et al*.，2003）。在进行生物信息学分析中，我们在家蚕基因组中也得到了一个与果蝇的 *msl-3*、人的 *hMSL3* 和酵母的 *Eaf3* 同源且有相似性结构的含染色质域基因 *Bm-msl3*，并对其进行了相关的研究（数据未列出）。家蚕为 ZZ/ZW 型生物，它们在家蚕中是否也形成类似于果蝇、人和酵母的复合体及其在家蚕的转录调控中的作用，都有待于进一步的研究来解决。原核表达得到该基因表达的蛋白质，这也为进一步在家蚕中研究其与其他基因的相互作用及其在家蚕中的作用位点奠定了基础。

参考文献（References）

Akhtar A，Becker PB，2001. The histone H4 acetyltransferase MOF uses a C_2HC zinc finger for substrate recognition. *EMBO Reports*，2(2)：113－118.

Carrozza MJ，Utley RT，Workman JL，Côté J，2003. The diverse functions of histone acetyltransferase complexes. *TRENDS in Genetics*，19(6)：

321－329.

Clarke AS，Lowell JE，Jacobson SJ，Pillus L，1999. Esa1p is an essential histone acetyltransferase required for cell cycle progression. *Mol. Cell. Biol.*，19(4)：2 515－2 526.

Doyon Y，Selleck W，Lane WS，Tan S，Côté J，2004. Structural and functional conservation of the NuA4 histone acetyltransferase complex from yeast to humans. *Mol. Cell. Boil.*，24(5)：1 884－1 896.

Eisen A，Utley RT，Nourani A，Allard S，Schmidt P，Lane WS，Lucchesi JC，Côté J，2001. The yeast NuA4 and *Drosophila* MSL complexes contain homologous subunits important for transcription regulation. *J. Biol. Chem.*，276(5)：3 484－3 491.

Jones DO，Cowell IG，Singh PB，2000. Mammalian chromodomain proteins：their role in genome organization and expression. *BioEssays*，22(2)：124－137.

Morales V，Straub T，Neumann MF，Mengus G，Akhtar A，Becker PB，2004. Functional integration of the histone acetyltransferase MOF into the dosage compensation complex. *EMBO J.*，23(11)：2 258－2 268.

Pelletier N，Champagne N，Lim H，Yang XJ，2003. Expression，purification，and analysis of MOZ and MORF histone acetyltransferases. *Methods*，31(1)：24－32.

Shia WJ，Osada S，Florens L，Swanson SK，Washburn MP，Workman JL，2005. Characterization of the yeast trimeric-SAS acetyltransferase complex. *J. Biol. Chem.*，280(12)：11 987－11 994.

Smith ER，Cayrou C，Huang R，Lane WS，Côté J，Lucchesi JC，2005. A human protein complex homologous to the *Drosophila* MSL complex is responsible for the majority of histone H4 acetylation at lysine 16. *Mol. Cell. Biol.*，25(21)：9 175－9 188.

Smith ER，Pannuti A，Gu W，Steurnagel A，Cook RG，Allis CD，Lucchesi JC，2000. The *Drosophila* MSL complex acetylates histone H4 at lysine 16，a chromatin modification linked to dosage compensation. *Mol. Cell. Biol.*，20(1)：312－318.

Taipale M，Rea S，Richter K，Vilar A，Lichter P，Imhof A，Akhtar A，2005. hMOF histone acetyltransferase is required for histone H4 lysine 16 acetylation in mammalian cells. *Mol. Cell. Biol.*，25 (15)：6 798－6 810.

Takechi S，Nakayama T，1999. Sas3 is a histone acetyltransferase and requires a zinc finger motif. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*，266 (2)：405－410.

（责任编辑：黄玲巧）